

Penambahan Gula untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Antagonisme Khamir *Rhodotorula minuta* terhadap *Colletotrichum acutatum* Penyebab Antraknosa Cabai secara *In-vitro*

Sri Hartati^{1*}, Wahyu Daradjat Natawigena¹, Noor Istifadah¹ dan Sri Rosmala Dewi²

¹Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Alumnus DHPT, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Jatinangor 40600

*Alamat korespondensi: s.hartati@unpad.ac.id

ABSTRACT

The addition of sugar to increase the growth and antagonism of *Rhodotorula minuta* against *Colletotrichum acutatum*, the causal agent of anthracnose on chilli *in-vitro*

Biocontrol can be used as an alternative in controlling anthracnose disease on chilli caused by *Colletotrichum acutatum*. One of the antagonistic agents that reported to be able to control anthracnose on chilli is *Rhodotorula minuta*. Some sugars can be utilized by *R. minuta* for its growth and antagonism. This research was objected to study the effect of addition of some sugars to increase the growth and antagonism of *R. minuta*. The experiment was arranged in the completely randomized design with 16 treatments and 3 replications. The treatments were addition of glucose, sucrose, trehalose, D-mannitol, and D-xylose at 1%, 2.5% and 5% each. The results showed that the addition of glucose, sucrose, trehalose, D-mannitol, and D-xylose were able to increase the growth of *R. minuta*. The addition of glucose, sucrose, trehalose, and D-mannitol increased antagonism of *R. minuta*. The addition of 1% sucrose was able to stimulate the highest growth rate of *R. minuta* at the cell density of 3.87×10^7 cells/ml. The addition of trehalosa 2.5% increased the colony growth at 3 and 6 days after treatment. Sucrose 2.5%, D-manitol 5%, and glukosa 2,5% caused the highest relative inhibition of *R. minuta* against *C. acutatum*.

Key words: antagonistic yeast, glucose, sucrose, trehalose, D-mannitol, D-xylose

ABSTRAK

Pengendalian hayati dapat digunakan sebagai alternatif dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada cabai. Salah satu agens antagonis yang telah dilaporkan mampu mengendalikan penyakit antraknosa pada cabai yang disebabkan oleh *Colletotrichum acutatum* adalah khamir *Rhodotorula minuta*. Beberapa gula dapat dimanfaatkan oleh *R. minuta* untuk pertumbuhan dan antagonismenya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan beberapa gula untuk meningkatkan pertumbuhan dan antagonisme *R. minuta*. Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 16 perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari penambahan gula glukosa, sukroa, trehalosa, D-mannitol dan D-xylose dengan konsentrasi masing-masing gula 1%, 2,5% dan 5%. Hasil percobaan menunjukkan bahwa penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-mannitol, dan D-xylose dapat meningkatkan pertumbuhan *R. minuta*. Penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, dan D-mannitol dapat meningkatkan antagonisme *R. minuta*. Perlakuan penambahan gula sukrosa 1% merupakan perlakuan yang dapat meningkatkan pertumbuhan *R. minuta* dengan kerapatan sel tertinggi yaitu sebesar $3,87 \times 10^7$ sel/ml. Penambahan trehalosa 2,5% dapat meningkatkan pertumbuhan koloni pada 3 HSP dan 6 HSP. Sukrosa 2,5%, D-manitol 5% dan glukosa 2,5% menyebabkan tingkat hambatan relatif *R. minuta* tertinggi terhadap *C. acutatum*.

Kata kunci : Khamir antagonis, glukosa, sukrosa, trehalosa, D-mannitol, D-xylosa

PENDAHULUAN

Penyakit antraknosa merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman cabai. Kerugian petani cabai akibat penyakit antraknosa dapat mencapai 20-90% (Badan Litbang Pertanian, 2016). Salah satu penyebab penyakit antraknosa adalah jamur *Colletotrichum acutatum*. Jamur *C. acutatum* dapat menyebabkan kehilangan hasil yang signifikan pada tanaman penghasil buah dan sayuran (Stankova *et al.*, 2011). Jamur ini dapat menyerang lahan cabai di Indonesia seluas 5.541 ha (Susetyo, 2017).

Pengendalian hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan. Saat ini, telah banyak jamur yang dilaporkan dapat dimanfaatkan dalam pengendalian hayati. Pemanfaatan jamur sebagai agens pengendali hayati yang telah dilaporkan diantaranya dari golongan khamir (Ahmad, 2008). *Rhodotorula minuta* merupakan salah satu khamir yang memiliki kemampuan sebagai agens antagonis terhadap *C. acutatum* penyebab antraknosa pada cabai (Hartati dkk., 2014).

Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh jenis gula, temperatur, pH dan aerasi. Beberapa gula dilaporkan dapat dimanfaatkan oleh mikroba diantaranya glukosa, sukrosa, molase dan tepung tapioka (Subagyo dkk., 2015). Khamir *R. minuta* mampu memanfaatkan beberapa gula untuk pertumbuhannya (Hartati dkk., 2017). Beberapa gula yang dapat dimanfaatkan oleh khamir tersebut diantaranya adalah D-Cellobiosa, D-Xylosa, N-Acetyl-L-Glutamic Acid plus D-Xylosa, Quinic Acid plus D-Xylosa, D-Glucuronic Acid plus D-Xylosa, Dextrin plus D-Xylosa, α -D-Lactosa plus D-Xylosa, D-Melibiosa plus D-Xylosa, D-Galactosa plus D-Xylosa, m-Inositol plus D-Xylosa, 1,2-Propaneditol plus D-Xylosa, Acetoin plus D-Xylosa, glukosa, galaktosa, sukrosa dan trehalosa (Hartati dkk., 2017).

Penambahan gula diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan dan kemampuan antagonisme khamir terhadap patogen penyebab penyakit. Druvefors (2004) melaporkan bahwa penambahan gula glukosa dan maltosa dapat meningkatkan pertumbuhan dan antagonisme khamir *Pichia anomala* terhadap *Penicillium roquefortii* pada biji gandum. Penambahan gula glukosa dapat meningkatkan pertumbuhan khamir patogenik *Candida albicans* (Leepel dkk., 2009).

Konsentrasi gula yang digunakan dalam meningkatkan pertumbuhan dan antagonisme

mikroba akan menghasilkan tingkat pertumbuhan dan antagonisme yang berbeda. Menurut Leepel dkk. (2009) semakin tinggi konsentrasi glukosa yang ditambahkan, semakin bertambah pertumbuhan *C. albicans*. Addy (2008) melaporkan bahwa penambahan glukosa 2% dapat meningkatkan kemampuan penghambatan *Pseudomonas fluorescent* terhadap *Erwinia caratovora*, sedangkan penambahan glukosa 5% menyebabkan penurunan daya hambat *P. fluorescent*. Akan tetapi, penambahan gula manitol 5% menyebabkan daya hambat *P. fluorescent* meningkat dibandingkan penambahan gula manitol 2%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-xylosa dan D-mannitol untuk meningkatkan pertumbuhan dan antagonisme *R. minuta*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran dari Februari sampai Juni 2018. Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 16 perlakuan dan 3 ulangan. Media yang digunakan untuk pengujian pengaruh penambahan gula terhadap pertumbuhan dan antagonisme *R. minuta* terhadap *C. acutatum* adalah PDA dengan 10 g dextrose. Perlakuan pada penelitian ini adalah:

- A. Penambahan gula glukosa 1%
- B. Penambahan gula glukosa 2,5%
- C. Penambahan gula glukosa 5%
- D. Penambahan gula sukrosa 1%
- E. Penambahan gula sukrosa 2,5%
- F. Penambahan gula sukrosa 5%
- G. Penambahan gula trehalosa 1%
- H. Penambahan gula trehalosa 2,5%
- I. Penambahan gula trehalosa 5%
- J. Penambahan gula D-mannitol 1%
- K. Penambahan gula D-mannitol 2,5%
- L. Penambahan gula D-mannitol 5%
- M. Penambahan gula D-xylosa 1%
- N. Penambahan gula D-xylosa 2,5%
- O. Penambahan gula D-xylosa 5%
- P. Kontrol tanpa penambahan gula

Penyiapan Biakan Murni *R. minuta* dan *C. acutatum*

Khamir *R. minuta* merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman,

Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, yang selanjutnya diremajakan dan diperbanyak. Biakan murni *R. minuta* ditumbuhkan pada media PDA dengan cara digores. Biakan diinkubasi selama 5-7 hari sebelum digunakan untuk perlakuan.

Jamur *C. acutatum* didapatkan dari hasil isolasi buah cabai yang menunjukkan gejala antraknosa. Buah cabai yang menunjukkan gejala antraknosa tersebut berasal dari Desa Ciptagumati, Kecamatan Cikalong Wetan, Padalarang, Bandung. Isolasi jamur *C. acutatum* menggunakan media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7-10 hari. Jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan serta diidentifikasi secara morfologi dengan mengamati bentuk konidianya.

Pengujian Pengaruh Penambahan Gula terhadap Kerapatan sel *R. minuta*

Pengujian pengaruh penambahan gula yaitu glukosa, sukrosa, trehalosa, D-xylosa dan D-mannitol menggunakan akuades sebagai pelarutnya. Konsentrasi glukosa, sukrosa, trehalosa, D-xylosa dan D-mannitol yang diuji 1%, 2,5% dan 5% didapatkan dengan menambahkan gula tersebut dalam akuades pada Erlenmeyer sehingga didapatkan larutan dengan volume 100 ml. Erlenmeyer yang berisi akuades disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Khamir *R. minuta* sebanyak 1 lup ose ditumbuhkan pada 100 ml larutan gula dan dishaker selama 24, 48 dan 72 jam dengan kecepatan 100 rpm. Kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan gula. pH larutan gula diukur setiap hari menggunakan pH meter.

Pengamatan kerapatan sel *R. minuta* dilakukan pada 24, 48 dan 72 jam setelah inkubasi dalam shaker. Kerapatan sel *R. minuta* dihitung pada pengenceran 10^{-1} dengan metode hitung langsung menggunakan hematisometer. Kerapatan sel dinyatakan dalam satuan sel/ml. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter dengan cara memasukkan elektroda dan stik pengukur ke dalam larutan yang dilakukan setiap 24 jam.

Pengaruh Penambahan Gula terhadap Pertumbuhan Koloni *R. minuta*

Pengujian pengaruh penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-xylosa dan D-mannitol terhadap pertumbuhan koloni *R. minuta* dilakukan dengan menggunakan media PDA $\frac{1}{2}$ dextrose. Gula tersebut ditambahkan pada saat membuat media PDA. Khamir *R. minuta*

ditumbuhkan dengan cara menggores secara vertikal dengan panjang goresan 3 cm pada media PDA $\frac{1}{2}$ dextrose yang telah ditambahkan gula sesuai dengan perlakuan. Pengamatan pertumbuhan khamir dilakukan setiap hari sampai hari ke-14. Sebagai kontrol, *R. minuta* ditumbuhkan pada media PDA $\frac{1}{2}$ dextrose tanpa gula.

Pengamatan pengaruh penambahan gula terhadap pertumbuhan koloni *R. minuta* dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar koloni khamir.

Pengaruh Penambahan Gula terhadap Kemampuan Antagonisme *R. minuta*

Pengaruh penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-xylosa dan D-mannitol terhadap kemampuan antagonisme *R. minuta* dilakukan secara *in-vitro* dengan metode *triple culture*. Khamir digoreskan pada media PDA $\frac{1}{2}$ dextrose tepat ditengah cawan petri secara tegak lurus. Jamur *C. acutatum* diambil dengan bor gabus ukuran 1,5 cm dan diletakkan pada sisi kanan dan kiri goresan khamir dengan jarak 3 cm kemudian diinkubasi pada suhu ruang. Kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan gula. Selain itu, dibuat perlakuan gula pada media PDA untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan *C. acutatum* tanpa pemberian khamir *R. minuta*. Pengamatan terhadap zona hambat dan presentase tingkat penghambatan *R. minuta* dilakukan setiap hari.

Pengamatan pengaruh penambahan gula terhadap kemampuan antagonisme *R. minuta* dilakukan dengan cara mengukur jari-jari koloni *C. acutatum* yang tumbuh mendekati *R. minuta*. Tingkat hambatan relatif dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$THR = \frac{jk - jp}{jk} \times 100\%$$

THR = tingkat hambatan relatif

jk = jari-jari koloni patogen yang mengarah ke antagonis pada kontrol

jp = jari-jari koloni patogen yang mengarah ke antagonis pada perlakuan

Pengaruh Penambahan Gula terhadap Peningkatan Antagonisme *R. minuta* melalui Pembentukan Senyawa Volatil

Pengujian kemampuan antagonisme melalui pembentukan senyawa volatil dilakukan dengan mengikuti metode Huang *et al.* (2014). Pengujian tersebut dilakukan dengan cara menggores *R. minuta* sebanyak 1 lup ose pada media PDA yang telah ditambah gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-

xylosa dan D-mannitol dengan konsentrasi 1%, 2,5% dan 5% pada cawan petri dan menumbuhkan *C. acutatum* berdiameter 1,5 cm pada media PDA yang telah diberi perlakuan secara terpisah. Selanjutnya, kedua cawan petri tersebut ditangkupkan satu sama lain saling berhadapan dengan posisi cawan petri berisi *C. acutatum* berada di atas cawan petri *R. minuta*. Kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan gula. Selain itu, dibuat perlakuan gula pada media PDA untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan *C. acutatum* tanpa pemberian khamir *R. minuta*. Pengamatan pertumbuhan *C. acutatum* dilakukan setiap hari.

Pengamatan dilakukan dengan mengukur koloni *C. acutatum*. Persentase tingkat hambatan

relatif dihitung dengan rumus seperti pada pengamatan kemampuan antagonisme *R. minuta*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Pengaruh Penambahan Gula terhadap Kerapatan sel *R. minuta*

Pertumbuhan khamir *R. minuta* pada larutan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-mannitol dan D-xylosa dengan konsentrasi 1%, 2,5% dan 5% berpengaruh terhadap kerapatan sel *R. minuta*. Khamir *R. minuta* dapat tumbuh pada gula yang diuji dan gula tersebut dapat meningkatkan kerapatan selnya (Tabel 1).

Tabel 1. Kerapatan sel *R. minuta* pada perlakuan penambahan gula dengan berbagai konsentrasi.

Perlakuan	Kerapatan sel <i>R. minuta</i> (sel/ml) pada pengamatan					
	24 jam		48 jam		72 jam	
A. Glukosa 1%	1,9 x 10 ⁷	a	2,9 x 10 ⁷	ab	3,7 x 10 ⁷	b
B. Glukosa 2,5%	1,8 x 10 ⁷	a	2,1 x 10 ⁷	ab	1,8 x 10 ⁷	ab
C. Glukosa 5%	2,1 x 10 ⁷	a	2,5 x 10 ⁷	ab	1,7 x 10 ⁷	ab
D. Sukrosa 1%	2 x 10 ⁷	a	3,8 x 10 ⁷	b	3,4 x 10 ⁷	b
E. Sukrosa 2,5%	1,5 x 10 ⁷	a	2,5 x 10 ⁷	ab	3,6 x 10 ⁷	b
F. Sukrosa 5%	2,1 x 10 ⁷	a	2,4 x 10 ⁷	ab	2,1 x 10 ⁷	ab
G. Trehalosa 1%	1,1 x 10 ⁷	a	1,9 x 10 ⁷	a	2,0 x 10 ⁷	ab
H. Trehalosa 2,5%	1,3 x 10 ⁷	a	1,8 x 10 ⁷	a	2,5 x 10 ⁷	ab
I. Trehalosa 5%	1,6 x 10 ⁷	a	2,2 x 10 ⁷	ab	2,1 x 10 ⁷	ab
J. D-mannitol 1%	1,4 x 10 ⁷	a	1,2 x 10 ⁷	a	2,6 x 10 ⁷	ab
K. D-mannitol 2,5%	1,1 x 10 ⁷	a	1,1 x 10 ⁷	a	2,4 x 10 ⁷	ab
L. D-mannitol 5%	1,5 x 10 ⁷	a	2,1 x 10 ⁷	ab	2,5 x 10 ⁷	ab
M. D-xylose 1%	2,4 x 10 ⁷	a	2,4 x 10 ⁷	ab	2,2 x 10 ⁷	ab
N. D-xylose 2,5%	2 x 10 ⁷	a	2,2 x 10 ⁷	ab	2,6 x 10 ⁷	ab
O. D-xylose 5%	1,6 x 10 ⁷	a	2,4 x 10 ⁷	ab	2,6 x 10 ⁷	ab
P. Kontrol	6 x 10 ⁶	a	1,4 x 10 ⁷	a	1,1 x 10 ⁷	a

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%

Kerapatan sel pada pengamatan 24 jam setelah perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kontrol pada semua perlakuan. Akan tetapi, pada pengamatan 48 jam setelah perlakuan, kerapatan sel *R. minuta* mengalami peningkatan pada seluruh perlakuan kecuali perlakuan gula D-mannitol 2,5%. Perlakuan penambahan sukrosa 1% menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol dengan kerapatan sel *R. minuta* sebesar 3,8 x 10⁷ sel/ml. Kerapatan sel *R. minuta* mengalami fluktuatif pada pengamatan 72 jam setelah perlakuan. Kerapatan sel *R. minuta* pada beberapa perlakuan di pengamatan 72 jam menunjukkan berbeda nyata dengan kontrol yaitu perlakuan

penambahan glukosa 1%, sukrosa 1% dan sukrosa 2,5% (Tabel 1).

Berdasarkan pengamatan selama 72 jam, kerapatan sel tertinggi terjadi pada perlakuan sukrosa 1% dengan nilai kerapatan sel 3,8 x 10⁷ sel/ml (Tabel 1). Haryadi (2013) melaporkan bahwa sukrosa dapat meningkatkan pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Sukrosa merupakan gula yang terbentuk dari glukosa dan fruktosa. Sumber gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa sangat penting bagi khamir dalam masa awal pertumbuhan. Sukrosa akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa oleh khamir sehingga dapat meningkatkan kandungan gula dalam medium (Tana & Isdadiyanto,

2016). Akan tetapi, konsentrasi sukrosa yang tinggi dapat menurunkan pertumbuhan khamir. Hal ini disebabkan gula dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik di luar sel lebih tinggi daripada tekanan di dalam sel sehingga cairan yang ada di dalam sel tertarik keluar dan sel mengalami plasmolisis (Leepel dkk., 2009).

Kerapatan sel *R. minuta* pada pengamatan 24 jam setelah perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kontrol pada seluruh perlakuan. Hal ini diduga disebabkan pada 24 jam setelah perlakuan khamir masih dalam fase adaptasi

(fase lag). Pada pengamatan 48 jam setelah perlakuan, khamir *R. minuta* mengalami pertumbuhan yang cepat karena khamir *R. minuta* dapat memanfaatkan berbagai gula tersebut sebagai nutrisi. Hal ini menunjukkan bahwa khamir telah memasuki fase eksponensial (fase log). Akan tetapi, memasuki waktu 72 jam kerapatan sel *R. minuta* pada beberapa gula mengalami penurunan. Penurunan kerapatan sel ini terjadi diduga karena nutrisi yang tersedia mulai berkurang dan khamir memasuki fase stasioner.

Tabel 2. Hasil pengamatan pH pada media *R. minuta* dengan perlakuan beberapa gula.

Perlakuan	Nilai pH pada pengamatan			
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	72 jam
A. Glukosa 1%	6,22	6,23	6,23	6,26
B. Glukosa 2,5 %	6,18	6,20	6,22	6,25
C. Glukosa 5%	6,02	6,08	6,13	6,18
D. Sukrosa 1%	6,15	6,21	6,22	6,25
E. Sukrosa 2,5 %	6,00	6,05	6,09	6,12
F. Sukrosa 5%	6,19	6,21	6,21	6,22
G. Trehalosa 1%	5,99	6,01	6,03	6,05
H. Trehalosa 2,5%	6,02	6,03	6,05	6,07
I. Trehalosa 5%	6,00	6,02	6,02	6,03
J. D-Mannitol 1%	6,01	6,04	6,07	6,10
K. D-Mannitol 2,5%	6,01	6,03	6,03	6,04
L. D-Mannito 5%	6,03	6,05	6,06	6,09
M. D-Xylose 1%	5,98	6,01	6,03	6,06
N. D-Xylose 2,5%	6,00	6,05	6,06	6,8
O. D-Xylose 5%	6,00	6,00	6,03	6,07
P. Kontrol	6,14	6,20	6,22	6,23

Hasil pengamatan pH pada larutan dengan perlakuan beberapa gula menunjukkan bahwa penambahan gula tidak berpengaruh terhadap pH. Nilai pH larutan dengan perlakuan beberapa gula berkisar antara 5,98 sampai 6,26 (Tabel 2). Nilai pH larutan gula yang diuji masih dalam batas optimal untuk pertumbuhan khamir, yaitu 1,5 sampai 8,5 sehingga tidak menghambat pertumbuhan *R. minuta*.

Pengaruh Penambahan Gula terhadap Pertumbuhan Koloni *R. minuta*

Perlakuan penambahan gula pada media PDA berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni *R. minuta*. Perlakuan trehalosa 2,5% menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kontrol pada pengamatan 3 hari setelah perlakuan (hsp), dengan lebar koloni sebesar 5,7 cm. Pertumbuhan koloni *R.*

minuta mengalami peningkatan pada pengamatan 6 dan 9 hsp. Akan tetapi, pada pengamatan 6 dan 9 hsp seluruh perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata dengan kontrol berdasarkan analisis statistik. Lebar koloni terbesar terjadi pada pengamatan 9 hsp yaitu pada perlakuan trehalosa 5% sebesar 14,4 cm (Tabel 3).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa trehalosa merupakan gula terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan koloni sel *R. minuta*. Menurut Sedijani (2014) trehalosa merupakan gula non reduksi yang tidak mudah terdegradasi oleh faktor luar. Gula ini tidak mudah mengalami perubahan struktur fisika maupun kimia dalam berbagai kondisi lingkungan, misalnya terhadap perubahan suhu, pH dan status air. Trehalosa juga memiliki sifat sebagai *biological stabilizing agent* atau *stress protecting agent* (Shinohara *et al.*, 2002).

Penambahan trehalosa dalam konsentrasi yang tinggi tidak menyebabkan lisis pada sel, sebaliknya dapat meningkatkan pertumbuhan koloni *R. minuta*.

Penggunaan media tumbuh yang berbeda dalam perlakuan penambahan gula dapat

menyebabkan kerapatan sel dan pertumbuhan koloni *R. minuta* yang berbeda. Media yang berbeda akan berpengaruh terhadap nutrisi serta karakteristik gula yang ditambahkan.

Tabel 3. Pertumbuhan koloni *R. minuta* pada perlakuan penambahan gula.

Perlakuan	Lebar koloni <i>R. minuta</i> (cm) pada					
	3 hsp		6 hsp		9 hsp	
A. Glukosa 1%	2,97	a	6,33	ab	8,53	ab
B. Glukosa 2,5 %	3,77	a	7,07	ab	6,57	a
C. Glukosa 5%	2,77	a	4,43	a	6,83	a
D. Sukrosa 1%	3,93	a	8,27	b	10,33	abc
E. Sukrosa 2,5 %	3,13	a	6,53	ab	8,53	ab
F. Sukrosa 5%	3,43	a	6,20	ab	9,07	abc
G. Trehalosa 1%	3,43	a	6,20	ab	9,83	abc
H. Trehalosa 2,5%	5,70	b	8,87	b	13,10	bc
I. Trehalosa 5%	3,83	a	9,33	b	14,40	c
J. D-Mannitol 1%	4,37	ab	7,80	b	11,80	abc
K. D-Mannitol 2,5%	3,80	a	7,10	ab	11,13	abc
L. D-Mannito 5%	4,47	ab	8,10	b	12,43	bc
M. D-Xylose 1%	4,20	ab	8,50	b	11,63	abc
N. D-Xylose 2,5%	3,33	a	7,17	ab	9,77	abc
O. D-Xylose 5%	2,80	a	6,17	ab	10,90	abc
P. Kontrol	3,70	a	6,63	ab	9,00	abc

Keterangan: 1) Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

2) hsp (hari setelah perlakuan).

Tabel 4. Kemampuan antagonisme khamir *R. minuta* terhadap *C. acutatum* dengan perlakuan penambahan gula pada 9 hsp.

Perlakuan	Jari-jari <i>C. acutatum</i> (cm)		Tingkat hambatan relatif (%)
A. Glukosa 1%	4,13 ± 0,18	abc	8,62
B. Glukosa 2,5%	4,07 ± 0,09	abc	9,95
C. Glukosa 5%	4,25 ± 0,00	bc	5,97
D. Sukrosa 1%	4,00 ± 0,00	abc	11,50
E. Sukrosa 2,5%	3,87 ± 0,18	ab	14,38
F. Sukrosa 5%	4,07 ± 0,07	abc	9,95
G. Trehalosa 1%	4,25 ± 0,25	abc	5,97
H. Trehalosa 2,5%	4,32 ± 0,23	bc	6,41
I. Trehalosa 5%	4,00 ± 0,00	abc	11,50
J. D-mannitol 1%	4,28 ± 0,28	bc	5,30
K. D-mannitol 2,5%	4,20 ± 0,20	abc	7,07
L. D-mannitol 5%	3,87 ± 0,39	ab	14,38
M. D-xylosa 1%	3,67 ± 0,44	a	18,80
N. D-xylosa 2,5%	4,05 ± 0,06	abc	10,39
O. D-xylosa 5%	3,80 ± 0,35	ab	15,93
P. Kontrol	4,52 ± 0,03	c	0,00

Keterangan: 1) Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%

2) hsp (hari setelah perlakuan)

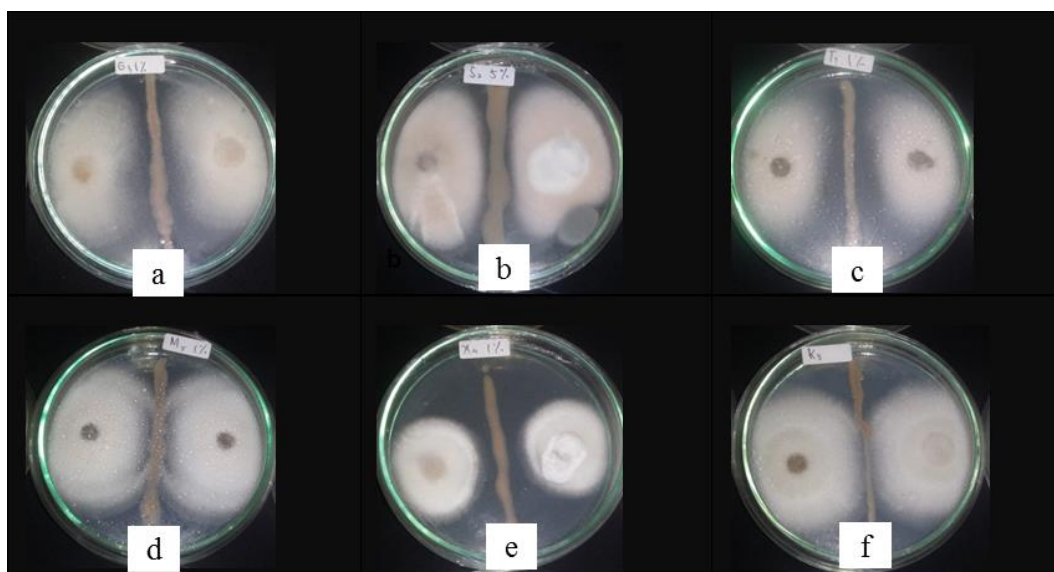
3) Nilai rata-rata ± SD

Pengaruh Penambahan Gula terhadap Kemampuan Antagonisme *R. minuta*

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan penambahan gula pada media pengujian berpengaruh terhadap pertumbuhan jari-jari patogen *C. acutatum*. Beberapa perlakuan penambahan gula menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol. Perlakuan tersebut adalah sukrosa 2,5%, trehalosa 5%, D-mannitol 5% dan D-xylosa 1%. Nilai tingkat hambatan relatif pada perlakuan penambahan berbagai gula berkisar antara 5,30% sampai 18,80% dengan tingkat hambatan relatif tertinggi terjadi pada perlakuan D-xylosa 1% (Tabel 4).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan beberapa gula dengan konsentrasi yang berbeda menghasilkan peningkatan antagonisme khamir yang berbeda-beda (Tabel 4 dan Gambar 1). Menurut Addy (2008) setiap mikroba dapat

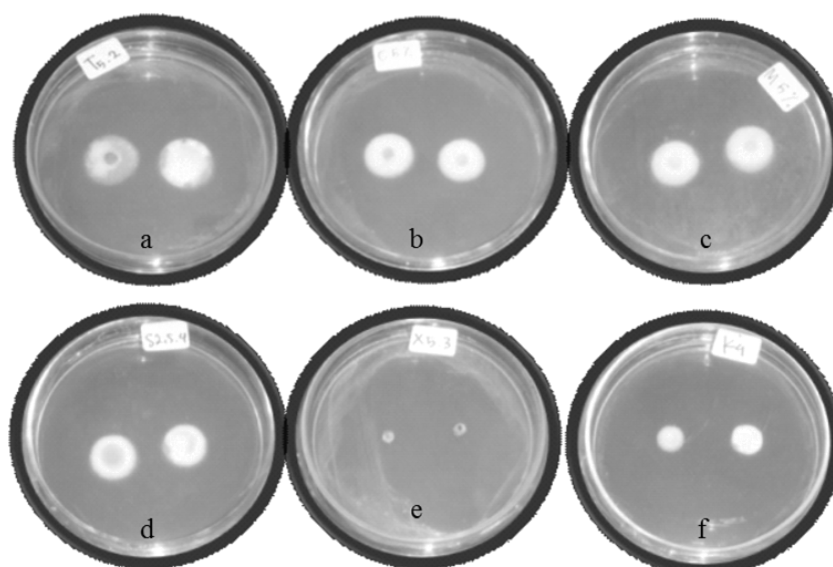
memanfaatkan gula yang berbeda untuk meningkatkan antagonismenya. Gula D-xylose memiliki kecenderungan menghambat pertumbuhan jamur *C. acutatum* (Tabel 4 dan Gambar 1). Hal ini terlihat juga pada pengujian penambahan gula dalam media PDA tanpa khamir *R. minuta* (Gambar 2). Data pengujian penambahan gula dalam media PDA tanpa khamir *R. minuta* menunjukkan bahwa seluruh perlakuan penambahan gula mampu meningkatkan pertumbuhan *C. acutatum*, kecuali gula D-xylose. Akan tetapi, penambahan gula D-xylose tidak menghambat pertumbuhan *R. minuta*. Hal ini menunjukkan bahwa jamur *C. acutatum* tidak mampu memanfaatkan gula D-xylose, sedangkan *R. minuta* mampu memanfaatkan gula tersebut. Oleh karena itu, perlakuan dengan tingkat hambatan relatif tertinggi adalah sukrosa 2,5% dan D-manitol 5% (Tabel 4).



Gambar 1. Hasil uji antagonisme khamir *R. minuta* terhadap *C. acutatum* pada 9 hsp dengan perlakuan (a) glukosa 1%, (b) sukrosa 1%, (c) trehalosa 1%, (d) D-mannitol 1%, (e) D-xylose 1%, dan (f) kontrol tanpa penambahan gula.

Uji antagonisme *R. minuta* dengan perlakuan penambahan gula menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mampu meningkatkan kemampuan antagonisme *R. minuta*. Pertumbuhan hifa jamur *C. acutatum* terlihat semakin menipis pada daerah mendekati khamir *R. minuta* (Gambar 1). Kemampuan khamir *R. minuta* dalam menekan pertumbuhan *C. acutatum* diduga disebabkan khamir menghasilkan senyawa toksin dan enzim

yang mampu menghambat pertumbuhan patogen. Hartati (2016) melaporkan bahwa *R. minuta* memiliki mekanisme antagonisme hiperparasit dan pembentukan senyawa volatil yang dapat menekan *C. acutatum*. Penambahan gula diduga mampu meningkatkan kemampuan *R. minuta* dalam menghasilkan senyawa toksin dan enzim. Khamir juga dikenal sebagai mikroba yang memiliki kemampuan dalam kompetisi nutrisi.



Gambar 2. Pertumbuhan *C. acutatum* tanpa *R. minuta* pada 4 hsp dengan perlakuan (a) trehalosa 5%, (b) glukosa 5%. (c) D-mannitol 5%. (d) sukrosa 5%. (e) D-xylose 5%. (f) kontrol tanpa penambahan gula.

Tabel 6. Kemampuan antagonisme khamir *R. minuta* terhadap *C. acutatum* melalui pembentukan senyawa volatil dengan perlakuan penambahan gula pada 9 hsp.

Perlakuan	Jari-jari <i>C. acutatum</i> (cm)	Tingkat hambatan relatif (%)
A. Glukosa 1%	1,85 ± 0,21 ab	7,50
B. Glukosa 2,5%	1,58 ± 0,44 ab	21,00
C. Glukosa 5%	1,83 ± 0,24 ab	8,50
D. Sukrosa 1%	1,73 ± 0,27 ab	13,50
E. Sukrosa 2,5%	2,05 ± 0,06 ab	-2,50
F. Sukrosa 5%	1,65 ± 0,39 ab	17,50
G. Trehalosa 1%	2,00 ± 0,21 ab	0,00
H. Trehalosa 2,5%	1,83 ± 0,17 ab	7,50
I. Trehalosa 5%	1,90 ± 0,40 ab	5,00
J. D-mannitol 1%	2,03 ± 0,23 ab	-1,50
K. D-mannitol 2,5%	2,20 ± 0,46 ab	-10,00
L. D-mannitol 5%	2,33 ± 0,67 b	-16,50
M. D-xylosa 1%	1,63 ± 0,32 ab	18,50
N. D-xylosa 2,5%	1,57 ± 0,63 ab	21,50
O. D-xylosa 5%	1,38 ± 0,26 a	31,00
P. Kontrol	2,00 ± 0,00 ab	0,00

Keterangan: 1) Angka rata-rata yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%

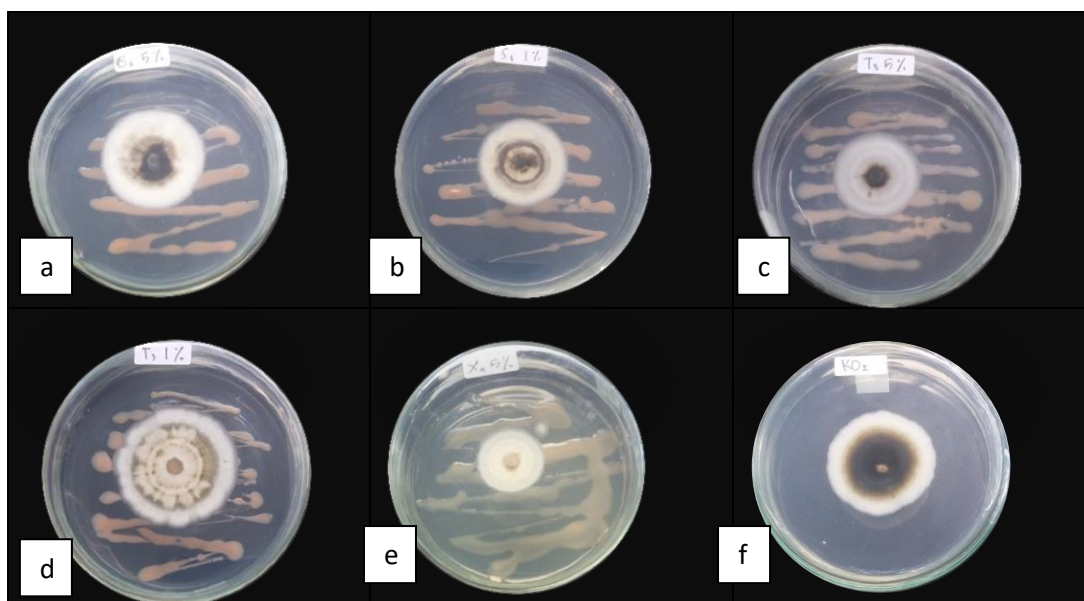
2) hsp (hari setelah perlakuan)

3) Nilai rata-rata ± SD

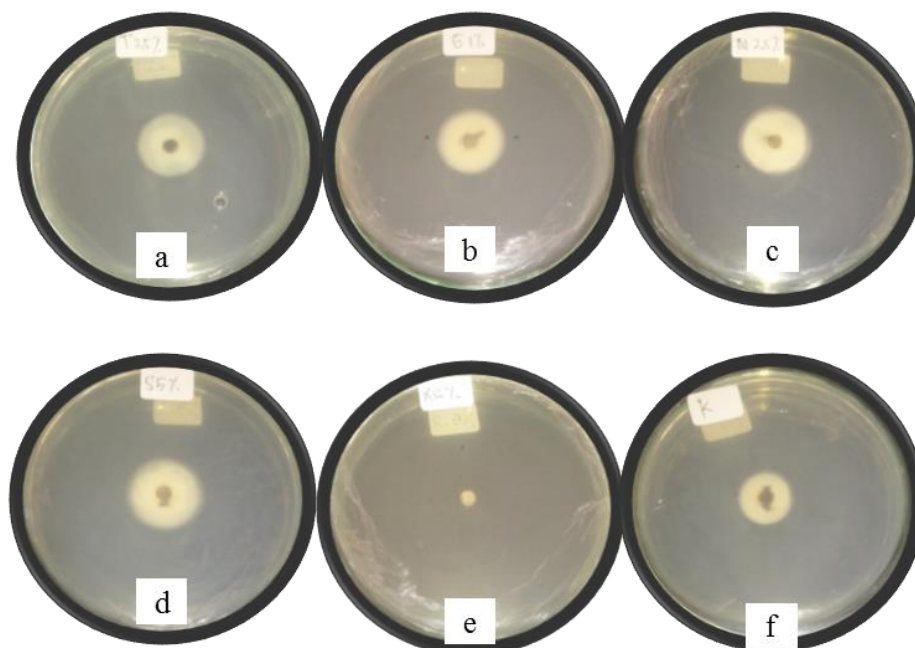
Pengaruh Penambahan Gula terhadap Peningkatan Antagonisme *R. minuta* melalui Pembentukan Senyawa Volatil

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya pengaruh penambahan gula terhadap peningkatan antagonisme *R. minuta* melalui pembentukan senyawa volatil. Perlakuan penambahan gula D-xylosa 5% menunjukkan nilai tingkat hambatan relatif tertinggi. Akan tetapi, hasil ini disebabkan D-

xylosa menekan pertumbuhan *C. acutatum* dan *C. acutatum* tidak mampu memanfaatkan D-xylosa. Oleh karena itu, nilai tingkat hambatan relatif tertinggi yang disebabkan oleh adanya peningkatan antagonisme *R. minuta* melalui pembentukan senyawa volatil dengan perlakuan penambahan gula adalah perlakuan glukosa 2,5% (Tabel 6 dan Gambar 3).



Gambar 3. Hasil uji antagonisme khamir *R. minuta* terhadap *C. acutatum* melalui pembentukan senyawa volatil pada 9 hsp dengan perlakuan (a) glukosa 5%, (b) sukrosa 5%, (c) trehalosa 5%, (d) *D-mannitol* 5%, (e) *D-xylose* 5%, dan (f) kontrol tanpa penambahan gula.



Gambar 4. Pertumbuhan *C. acutatum* tanpa *R. minuta* pada 4 hsp dengan perlakuan (a) trehalosa 5%, (b) glukosa 5%, (c) *D-mannitol* 5%, (d) sukrosa 5%, (e) *D-xylose* 5%, dan (f) kontrol tanpa penambahan gula.

Penekanan *D-xylose* terhadap pertumbuhan *C. acutatum* juga ditunjukkan pada hasil pengujian pengaruh penambahan gula terhadap *C. acutatum* dengan metode Huang (2011) tanpa *R. minuta* (Gambar 4). Perlakuan gula *D-mannitol* menghasilkan nilai tingkat hambatan relatif negatif. Hal ini

menunjukkan bahwa *D-mannitol* tidak mampu meningkatkan kemampuan *R. minuta* dalam membentuk senyawa volatil.

Menurut Hermansyah *et al.* (2016) khamir mampu tumbuh pada media yang mengandung *D-xylose* sebagai gula. Khamir akan mereduksi *D-*

xylose menjadi xylitol melalui jalur katabolisme yang melibatkan enzim kunci yaitu *xylose* reduktase (XR), *xylitol* dehidrogenase (XDH) dan xilulokinase (XK). Xylitol merupakan gula alkohol yang memiliki struktur khusus sehingga sulit dicerna oleh mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan jamur (Aslim, 2014). Jamur *C. acutatum* tidak dapat memanfaatkan D-xylosa sehingga kekurangan nutrisi akibat persaingan nutrisi dengan *R. minuta*.

Menurut Suciyanti dkk. (2015) pembentukan senyawa volatil dipengaruhi oleh waktu inkubasi, nutrisi, suhu dan kelembaban. Pembentukan senyawa volatil merupakan salah satu mekanisme antagonisme khamir *R. minuta*. Senyawa volatil adalah suatu senyawa yang mudah menguap menjadi gas. Jamur dapat menghasilkan senyawa volatil berupa campuran senyawa hidrokarbon sederhana seperti aldehid, keton, benzena, sikloheksena, alkohol, fenol thioalkohol, thioester dan turunannya. Senyawa volatil dapat dimanfaatkan sebagai *mycofumigant* dan dapat dijadikan *infochemical* yang dapat mencegah terjadinya infeksi patogen. Khamir *R. minuta* dapat menghasilkan senyawa volatil berupa 2-metil butanol, 3-metil butanol, dimetil trisulfida dan tiometil-1-propanol (Buzzini *et al.*, 2005).

SIMPULAN

Penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, D-mannitol, dan D-xylosa mampu meningkatkan kerapatan sel dan pertumbuhan koloni *R. minuta*. Sukrosa 1% merupakan gula terbaik dalam meningkatkan kerapatan sel yaitu sebesar $3,8 \times 10^7$ sel/ml pada 48 jam setelah perlakuan, sedangkan trehalosa 2,5% merupakan gula terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan koloni *R. minuta* dengan lebar koloni 14,4 cm pada pengamatan 9 hsp. Penambahan gula glukosa, sukrosa, trehalosa, dan D-mannitol juga mampu meningkatkan antagonisme *R. minuta*. Perlakuan dengan tingkat hambatan relatif tertinggi adalah sukrosa 2,5%, D-mannitol 5%, dan glukosa 2,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Addy, HS. 2008. Pengaruh gula terhadap daya antagonistik bakteri *Pseudomonas* pendar fluor terhadap *Erwinia caratovora*. Jurnal Pengendalian Hayati. 1: 12-16.
- Ahmad, RZ. 2008. Pemanfaatan cendawan untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak. Jurnal Litbang Pertanian. 27(3) : 1-9.
- Aslim, F. 2014. Daya hambat xylitol terhadap pertumbuhan mikroorganisme rongga mulut (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*) studi in-vitro [Skripsi]. Universitas Hasanuddin: Makassar. 79 hal. Repository Universitas Hasanuddin.
- Badan Litbang Pertanian. 2016. Pengendalian penyakit antraknosa pada tanaman cabai. <http://www.litbang.pertanian.go.id/berita/one/2630/>. Diakses pada tanggal 14 Januari 2018.
- Buzzini, P, A Martini, F Cappelli, UM Pagnoni, and P Davoli. 2013. A study on volatile organic compounds (VOCs) produced by tropicalis ascomycetous yeast. Antonie Van Leeuwenhoek. 84(4) : 301-311.
- Druvefors UÅ. 2004. Yeast biocontrol of grain spoilage moulds—mode of action of *Pichia anomala* [dissertation]. Swedish University of Agricultural Sciences: Swedia (SE). 44pp. Available from: Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Agraria 466.
- Hartati, S, S Wiyono, H Hendrastuti, dan MS Sinaga. 2016. Khamir sebagai agens biokontrol antraknosa (*Colletotrichum acutatum*) pada tanaman cabai pascapanen [disertasi]. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 94 hal. Tersedia di: Repository Institut Pertanian Bogor.
- Hartati, S, S Wiyono, SH Hidayat, dan MS Sinaga. 2017. Karakterisasi morfologi dan pemanfaatan sumber karbon oleh khamir antagonis patogen antraknosa. Jurnal Mikologi Indonesia 1(2): 47-60.
- Hartati. S, S Wiyono, SH Hidayat, dan MS Sinaga. 2014. Seleksi khamir epifit sebagai agens antagonis penyakit antraknosa pada cabai. Jurnal Hortikultura 24(3) : 258-265.
- Haryadi. 2013. Analisa kadar alkohol hasil fermentasi ketan metode kromatografi gas dan uji aktifitas *Saccharomyces cereviceae* secara mikroskopis [thesis]. Universitas Diponogoro: Semarang. 53 hal. Tersedia di: Repository Diponogoro University University.
- Hermansyah, M Novia, dan Wiraningsih. (2016). Bioethanol production from cellulose by *Candida tropicalis*, as an alternative microbial agent to produce ethanol from lignocellulosic biomass. Sriwijaya Journal of Environment. 1(1): 10-13

- Huang R, GQ Li, J Zhang, L Yang , HJ Che, DH Jiang, and HC Huang. 2011. Disease control and pest management control of postharvest botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. Phytopathology. 101:859-869.
- Leepel, LA, R Hidayat, R Puspitawati, and BM Bahtiar. 2009. Efek penambahan glukosa pada saburoud dextrose broth terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (Uji in-vitro). Indonesian Journal of Dentistry. 16(1) : 58-63.
- Sedijani, P. 2014. Peran trehalosa metabolisme sepanjang masa kehidupan tanaman. Jurnal Biologi Tropis. 14(2): 139-152.
- Shinohara, ML, A Correa, D Bell-Pedersen, JC Dunlap, and JJ Loros. (2002). Neurospora clock-controlled gene 9 (ccg-9) encodes trehalose synthase: circadian regulation of stress responses and development. Eukaryot. (1):33-43.
- Stankova B, J Vichova, and R Pokorny. 2011. Virulence of *Colletotrichum acutatum* isolates to several host plants. Acta univ agric et silvic Mendel Brun. LIX (3):161-170.
- Subagyo, S Margino, dan Triyanto. 2015. Pengaruh penambahan berbagai jenis gula, nitrogen dan fosfor pada medium deMan, rogosa and Sharpe (MRS) terhadap pertumbuhan asam laktat yang diisolasi dari intestinum udang penaeidin. Jurnal Kelautan Tropis 18(3) : 127-132.
- Suciyanti, S, E Sulistyowati, dan Y Fenita. 2015. Evaluasi nutrisi limbah kulit durian (*Durio zibethinus*) yang difermentasi jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) pada masa inkubasi yang berbeda. Jurnal Sains Peternakan Indonesia 10(2) : 77-86.
- Susetyo, HP. 2017. *Succes story* dan *strategic planning* pengendalian OPT cabai merah di Indonesia secara ramah lingkungan. Direktorat Perlindungan Hortikultura.
- Tana, S, dan S Isdadiyanto. 2016. Pengaruh waktu fermentasi teh kombucha kadar 50% terhadap glukosa darah tikus putih. Prosiding Seminar Nasional *from Basic Science to Comprehensive Education*. Makassar 188-193.